

版本号: FDH1715

## FinePure Plasmid Mini Kit

### FinePure 少量质粒柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FD906

#### 产品内容:

产品组成	FD906-1	FD906-2
	(50 preps)	(100 preps)
RNase A(10 mg/ml)	150 µl	300 µl
Buffer P1	15 ml	30 ml
Buffer P2	15 ml	30 ml
Buffer P3	20 ml	30 ml
Buffer DW	30 ml	60 ml
Buffer DW2	12 ml	24 ml
Buffer TB	15 ml	30 ml
DNAPure Mini Spin Columns	50 个	100 个
2 ml Collection Tubes	50 个	100 个

#### 储存条件:

本试剂盒所有的组分置于室温(15-25°C)干燥条件下,可保存12个月。Buffer P2和Buffer P3可能会有沉淀形成,使用前需在37°C水浴中重新溶解,摇匀后使用。当RNase A加入Buffer P1后,可在2-8°C保存6个月。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介：

本试剂盒采用SDS和碱裂解法，结合玻璃纤维素膜特异性吸附溶液中DNA的方法，适合从1-5 ml细菌培养物中提取多至35 µg质粒DNA。纯化的质粒DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译、转染一些常规的传代细胞等。本试剂盒对Buffer P2进行了优化，可以避免菌量极少时或者菌液过度老化时可能出现的单链质粒DNA，同时对Buffer P3进行了优化，可以有效避免因SDS残留导致的酶切不完全或弥散、转染效率低等情况。

## 注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 试剂盒中提供有 RNase A，简短离心，然后将所有 RNase A 溶液加入 Buffer P1，混匀后置于 2-8℃ 保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer DW2 中加入无水乙醇。
3. 所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心，速度为 12,000 rpm 。
4. 使用前请先检查 Buffer P2 和 P3 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37℃ 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。注意不要直接接触 Buffer P2 和 P3，使用后应立即盖紧盖子。
5. 如果提取质粒为低拷贝质粒时，可使用 5-10 ml 过夜培养的菌液，同时按比例增加 Buffer P1、Buffer P2 和 Buffer P3 用量，其它步骤相同。

## 操作步骤：

1. 取 1-5 ml 过夜培养的菌液，加入离心管中，12,000 rpm 离心 1 min，倒弃培养基，然后将离心管在吸水纸上轻轻拍打去尽残液。
2. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 250 µl Buffer P1/RNase A，使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。

**注意：彻底重悬细菌对产量很关键，重悬后应看不到细菌团块。**

- 
3. 向离心管中加入 250  $\mu$ l Buffer P2，温和地上下颠倒混匀 8-10 次使菌体充分裂解。  
**注意：**轻轻颠倒混匀，不要剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，造成提取的质粒中混有基因组 DNA 片断。此时菌液应变得清亮粘稠，所用时间不应超过 5 min，以免质粒受到破坏。
  4. 向离心管中加入 350  $\mu$ l Buffer P3，立即温和地上下颠倒混匀 8-10 次，此时将出现白色絮状沉淀。12,000 rpm 离心 10 min，此时在离心管底部形成沉淀。  
**注意：**Buffer P3 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀。如果上清中还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。
  5. 将吸附柱 DNAPure Mini Spin Column 放入收集管中，然后将上一步离心收集的上清液用移液器转移到吸附柱中，注意尽量不要吸出沉淀。12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
  6. *（可选）*向吸附柱中加入 500  $\mu$ l Buffer DW，12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。  
**注意：**处理富含核酸酶的菌株(end A+)如 HB101 时，不能省略此步。
  7. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ l Buffer DW2 **（请先检查是否已加入无水乙醇）**，12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
  8. 重复步骤 7。
  9. 12,000 rpm 离心 3 min。
  10. 将吸附柱置于新的 1.5 ml 离心管中，加入 50-100  $\mu$ l Buffer TB 至吸附膜的中央，12,000 rpm 离心 1 min 将质粒溶液收集到离心管中。  
**注意：**56-70 $^{\circ}$ C 预热 TB 或去离子水(pH $\geq$ 7.0)，可以提高洗脱效率。如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至 $\geq$ 7.0。